

THESIS

WURZBURG

1966⁴

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

Die Beeinflussung des Kaliums und der ATP im Blut
durch Cholin-Phosphatide

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Herbert Feustel
aus Schweinfurt

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Würzburg 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153518_0060

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

Die Beeinflussung des Kaliums und der ATP im Blut
durch Cholin-Phosphatide

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Herbert Feustel
aus Schweinfurt

Würzburg 1966

Referent: Privatdozent Dr. med. W. Gross

Korreferent: Professor Dr. med. H. Franke

Tag der Promotion:

2. 2. 67

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen
Fakultät der Universität Würzburg

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodik	2
III. Schilderung der Untersuchungsmethode	
1. Bestimmung der Elektrolyte	4
a) Herstellung der Eichlösungen	4
b) Bestimmung der Elektrolyte im Serum und Vollblut	4
c) Hämatokritbestimmung	5
d) Berechnung des Elektrolytgehaltes der Erythrozyten	5
2. Bestimmung der ATP	6
a) Herstellung der Lösungen	6
b) Arbeitsweise	7
c) Störungen	8
IV. Ansätze des Untersuchungsmaterials	9
V. Ergebnisse	10
1. Befunde am Konservenblut	10
2. Befunde des Blutes der Versuchspersonen	14
VI. Diskussion der Ergebnisse	16
VII. Zusammenfassung der einzelnen Punkte	26
VIII. Literaturverzeichnis	I-V

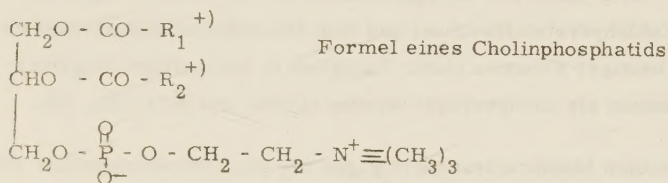
I. EINLEITUNG

Kaliumverlust und Natriumaufnahme spielen bei der Alterung der Zelle eine große Rolle. Hierbei kommt es zum Austritt des Kaliums aus den Erythrozyten und zur Natriumaufnahme, so daß sich die Konzentrationsdifferenzen der Ionen ausgleichen. Durch das Phänomen des aktiven Transports wird Kalium gegen das Konzentrationsgefälle in der Zelle, Natrium in der Außenflüssigkeit angereichert. Normalerweise müßte man also erwarten, daß das Natrium in die Zelle einströmt und Kalium austritt. Nun besteht die Vorstellung, daß Pumpen gegen das Konzentrationsgefälle das Natrium ständig herauspumpen und infolgedessen Kalium einströmt. Energiequelle für diese Vorgänge ist mit großer Wahrscheinlichkeit die Glykose, und ATP stellt einen der Energielieferanten dar. Verbindungen zwischen dem Kohlehydratstoffwechsel und dem Phospholipidstoffwechsel bestehen nach heutiger Kenntnis nicht. Lediglich in kernhaltigen Vogelerythrozyten konnten sie nachgewiesen werden (LÖHR und WALLER, 21).

Für diesen echten Membrantransport gegen das Konzentrationsgefälle diskutiert WILBRANDT (51) einen "carrier"-Mechanismus. Zur Zeit herrscht die Vorstellung, daß das zu transportierende Substrat sich vorübergehend mit einem Bestandteil der Membran verbindet - dem sogenannten "carrier" - und daß diese "Verbindung" die Membran passiert und auf der anderen Seite sich trennt, so daß das entsprechende Kation wieder freigegeben wird. Das Transportgut durchdringt die Membran nicht frei, sondern auf Grund einer passageren Verbindung. Während das Verhalten der Ionen ausreichend von vielen Autoren (4, 8, 9, 7, 17, 18, 20, 23, 39-42, 46, 47) untersucht wurde, besteht über den eigentlichen Träger noch keine Klarheit. WILBRANDT (49, 50) nimmt an, daß wahrscheinlich ein Lipoid, bzw. eine Phosphatidsäure oder deren Derivate hierfür in Frage kämen.

Die Störungen des Lipoidstoffwechsels sind abgesehen von den Lipoidosen von großer Bedeutung bei der Entstehung der Arteriosklerose (SCHETTLER, 36). Für die Genese, besonders dieser Erkrankung,

werden heute in erster Linie die Derivate des Glyzerins, d. h. die Triglyzeride angeschuldigt (ALBRINK, SCHETTLER, 36, 37, 38). Mit dem Problem der Behandlung dieser Erkrankung hat sich vor allem die Arbeitsgruppe um SCHETTLER beschäftigt. Es konnte nachgewiesen werden, daß u. a. Cholinphosphatide in der Lage sind die Fettsäure-Ester (Triglyzeride) im Serum zu beeinflussen (JUCHEMS und GROSS, 24). Es war daher naheliegend zu folgern, daß eine derartige Wirkung auch auf die Membran der Erythrozyten anzunehmen sei. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es zu klären, ob die obengenannte Verbindung in Abhängigkeit von der Konzentration in der Lage ist, den Kalium-Natriumaustausch zwischen Erythrozyten und umgebender Flüssigkeit zu beeinflussen. Dabei galt das Augenmerk hauptsächlich dem Kalium, da es das wichtigste Kation der Zelle darstellt.



+) Der Fettsäureanteil besteht zu 70 - 80 % aus ungesättigten Fettsäuren.

II. METHODIK

Die Untersuchungen erstreckten sich auf Erythrozytenkonzentrate, die aus Blutkonserven hergestellt wurden und mit Ringerlösung im Verhältnis 1:1 aufgeschwemmt wurden. Ein Teil des Blutes wurde mit EPL-Substanz in wechselnder Konzentration ersetzt. Zunächst wurden diese Ansätze 5 Tage im Kühlschrank aufbewahrt und alle 24 Stunden hinsichtlich des Kaliums und der ATP untersucht. Anschließend wurden sie in ein Wasserbad von 37°C verbracht und in 12-stündigem Abstand über eine Zeit von 36 Stunden untersucht. In einer weiteren Untersuchungsreihe wurde nach Zusatz von verschiedenen Mengen an Cholinphosphat-

tiden die Konserven 3 Tage im Eisschrank belassen und die nächste Messung nach 72 Stunden durchgeführt. Nach Verbringen der Suspensionen in ein Wasserbad von 37 Grad wurde wiederum 36 Stunden lang alle 12 Stunden Messungen durchgeführt.

In einer weiteren Serie wurde bei 10 Patienten, die keine Erkrankungen des Fettstoffwechsels aufwiesen, nüchtern Blut entnommen und Bestimmungen an K und ATP durchgeführt. Ein Teil dieses Blutes (30 ml) wurde mit Heparin (Substanz) versetzt, um weitere Untersuchungen durchzuführen. Gleichzeitig wurden 2 Ampullen Lipostabil (500 mg Cholinphosphorsäure - Diglyzerid-Ester) injiziert. Nach einer Zeit von 2 Stunden - einem Zeitpunkt, nach dem der Erfahrung gemäß eine Senkung der Fettsäure-Ester im Blut eintritt - wurde wiederum Blut für die obengenannten Analysen entnommen (JUCHEMS u. GROSS). Die mit Heparin versetzten Blutproben wurden den vorgenannten Analysen unterworfen und auch wiederum 3 Tage im Kühlschrank aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden Messungen an Kalium und ATP durchgeführt. Daraufhin wurden die Proben in einem Wasserbad von 37 Grad inkubiert und Messungen nach 4 und 8 Stunden durchgeführt.

Herstellung des Erythrozytenkonzentrates

Erythrozytenkonzentrat wird im Verhältnis 1:1 mit Ringerlösung aufgeschwemmt (50 ml Erykonzentrat und 50 ml Ringerlösung). Insgesamt werden 5 verschiedene Konzentrationen an Cholinphosphatiden zugesetzt. Von der käuflichen Lösung (Lipostabil) werden 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 und 1,6 ml zugesetzt. Im Vergleich hierzu wurden 2 Leerwerte untersucht. Die angegebenen Mengen in ml entsprechen 0,1 g EPL/pro 1000 ml. Die übrigen Werte verhalten sich analog hierzu. Die Konzentrationen an EPL wurden auf Grund des bekannten therapeutischen Verhaltens des Präparates gewählt, die bei der klinischen Anwendung bei ca. 0,2 bis 0,4 g/1000 ml liegt.

1. Bestimmung der Elektrolyte

a) Herstellung der Eichlösungen

Bei der vorliegenden Arbeit wurden benutzt:

Eichlösungen für die

Serumanalysen

Hierbei handelt es sich um einen durch den Fachhandel beziehbaren "Standard", der in 1000 ml enthält:

Ca: 100 mg (5,0 mval/l)

K : 150 mg (3,84 mval/l)

Na: 3300 mg (143,5 mval/l)

Dieser "Standard" wurde dann für die Kalium-Bestimmung 1:20, und für die Natrium-Bestimmung 1:200 verdünnt.

Die gleichen Eichlösungen wurden bei den Vollblutanalysen benutzt.

Mit diesen Eichlösungen wurde das Flammenphotometer "Eppendorf" vor jeder Messung so eingestellt, daß

für K : 15 mg % und

für Na : 330 mg % angezeigt wurden.

b) Bestimmung der Elektrolyte im Serum und Vollblut

Das zu messende Blut wurde, nachdem der Inhalt der Kolben gut vermischt worden war, in ein Reagenzglas gebracht, und wie anschließend geschildert wird, vorbereitet:

für die Serumbestimmung
des K-Gehaltes:

0,5 ml des durch 5 Min. langes Zentrifugieren bei 5000 Umdrehungen gewonnenen Serums wurden ad 10 ml mit Aq. tridest. aufgefüllt, so daß sich eine Verdünnung 1:20 ergab.

des Na - Gehaltes:

1 ml des 1:20 verdünnten Serums aufgefüllt mit Aq. tridest. ad 10 ml, so daß sich jetzt eine Verdünnung von 1:200 ergab.

für die Vollblutbestimmung des
Na- und K - Gehaltes:

0,5 ml des Erythrozyten-Ringerlösungsgemisches, bzw. des Patienten-
blutes wurden in einem Kolben mit Aq. tridest. ad 100 ml aufgefüllt,
so daß sich bei gleichzeitiger Hämolyse der Erythrozyten eine Verdünnung
im Verhältnis 1:200 ergab.

Bevor ich nun mit der Analyse begann, stellte ich vor jeder Bestimmung
das Flammenphotometer mit der entsprechend geeigneten, oben be-
schriebenen Eichlösung ein.

c) Hämatokritbestimmung

In eine heparinisierte Glaskapillare wurde das zu analysierende Blut
aufgezogen, anschließend die Kapillare am Bunsenbrenner an einem
Ende zugeschmolzen und 15 Minuten bei 10000 Umdrehungen pro Minute
in der Mikro-Hämatokritzentrifuge zentrifugiert. Dann ließ sich der
Hkt. mit Hilfe des HAWKSLEY-Readers ablesen.

d) Berechnung des Elektrolytgehaltes der Erythrozyten

Sie erfolgte nach der Formel (1)

$$E_E = \left[E_B - E_S \left(1 - \frac{H}{100} \right) \right] \frac{100}{H} \quad \text{mval/l}$$

Dabei ist:

E_E = Gehalt der Erythrozyten an Elektrolyt E in mval/l

E_B = Gehalt des Vollblutes an Elektrolyt E in mval/l

E_S = Gehalt des Serums an Elektrolyt E in mval/l

H = Hämatokrit (Vol. % Erythrozyten im Vollblut)

2. Bestimmung der ATP

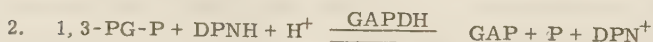
Die Bestimmung der ATP erfolgte nach der optischen Methode Warburg' s. Die Messungen führte ich mit einem Photometer (Photometer Eppendorf) mit vollautomatischer Registrierung bei einer Schichtdicke der Küvetten von 10 mm unter Verwendung des Absorptionsfilters für die Wellenlänge 366 mμ durch. Dies entspricht der Wellenlänge für das halbe Absorptionsmaximum der DPNH. Die Temperatur wurde während der Messung durch einen Thermostaten konstant gehalten (25°C), der mit einem heizbaren Küvettenhalter verbunden war.

Die Messung des ATP-Verbrauches erfolgte indirekt durch Verfolgung der gekoppelten DPNH/DPN⁺ -Reaktion bei Übergang von 1, 3-Diphosphoglyzerinsäure (1, 3-PG-P) in Glyzerinaldehyd-3-Phosphat (GAP).

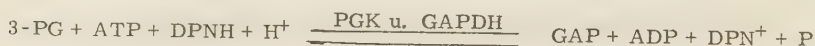
Das Enzym PGK (= Phosphoglyzerat-Kinase) katalysiert die Reaktion



(3-PG = 3-Phosphoglyzerat)



Die Gesamtgleichung lautet:



Aus dieser Gleichung geht hervor, daß der DPNH-Verbrauch ein Maß für die vorliegende ATP-Menge ist.

(DPNH = reduziertes Diphosphopyridinnukleotid; DPN⁺ = oxydiertes DPNH; GAPDH = Glyzerinaldehyd-phosphatdehydrogenase; P = anorg. Phosphat).

a) Herstellung der Lösungen

- I. Reaktionsgemisch (TRA/PG = TRIÄTHANOLAMINPUFFER/
PHOSPHOGLYZERAT)

0,10M TRA pH = 7,6; 4×10^{-3} M MgSO_4
 $6,10^{-3}$ M x 3-PG ad 50 ml aqua bidestillata

II. Reduz. DPNH

$1,2 \times 10^{-2}$ DPNH ad 1,0 ml 1 % Natriumbicarbonatlösung.

III. GLYZERINALDEHYDPHOSPHAT-DEHYDROGENASE/PHOSPHO-
GLYZERAT-KINASE (GAPDH/PGK)

4 mg GAPDH/ml 1 mg PGK/ml

IV. PERCHLORSÄURE

ca. 0,6 M

5,0 ml 70 % Perchlorsäure ad 100 ml aqua bidest.

b) Arbeitsweise

I. ENTEIWEISSUNG:

In ein Zentrifugenglas wurden nacheinander 1 ml eiskalte Perchlorsäure (IV) und 1 ml Blut pipettiert, mit einem Plastikspatel gut gemischt und 5 Minuten bei ca. 3000 U/min zentrifugiert. Nach Temperieren auf ca. 25°C wurden 0,2 ml vom Überstand abpipettiert und zum Test eingesetzt.

II. BESTIMMUNGSANSATZ:

In die 10 mm-Küvette wurden nacheinander pipettiert:

2,40 ml TRA/PG-Lösung (I)

0,04 ml DPNH (II)

0,20 ml Probe

mit einem Plastikspatel gut gemischt und die Extinktion (E_1) dieses "Vorlaufes" wurde dann nach ca. 5 Min. bei 366 mμ abgelesen.

Anschließend wurden

0,04 ml GAPDH/PGK (III)

eingemischt und nach ca. 5 Min. die Extinktion abgelesen (E_2).

Die Extinktionsdifferenz ($E_1 - E_2$) = geht in die Berechnung ein.

III. BERECHNUNG

Die Reaktion verläuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Eine Extinktionsdifferenz (E) von 1,0 entspricht (gemäß dem Extinktionskoeffizienten für DPNH) für die Messung bei 366 nm 0,03030 uMol DPNH/ml, somit ebenso vielen uMol ATP/ml oder im Küvetteninhalt von 2,68 ml und bei 10 mm Schichtlänge: 0,0812 uMol ATP, was einer Menge von 41,18 Gamma/ml ATP entspricht. Um den ATP-Gehalt im ml des untersuchten Blutes zu erhalten, ist die bei der Enteiweißung eingetretene Verdünnung zu berücksichtigen. Das Blut enthält ca. 80 % seines Gewichtes an Flüssigkeit; 1 ml Blut wiegt 1,06 g. Setzt man für 1 ml Blut = 1,06 g dann ergibt die Enteiweißung $1,06 \times 80/100 + 1 = 1,85$ ml Extrakt. Davon werden 0,2 ml zum Test eingesetzt. Die Verdünnung ist $1,85 : 0,2 = 9,25$. Die Umrechnung auf ATP/ml erfolgt mit dem Faktor 9,25.

Nach dieser Arbeitsvorschrift ergibt sich also für die Messung bei 25°C

$$E \times 3809 = \text{Gamma ATP im ml Blut.}$$

c) Störungen

Soweit bisher bekannt, können auf Grund der nicht absoluten Spezifität der PGK gegenüber der ATP nur größere Mengen an Triphosphaten und andere Nucleoside die Methode stören, jedoch ist die Affinität der PGK diesen gegenüber sehr gering. Solche Substanzen finden sich außerdem nur in unbedeutender Konzentration im Blut (1,18).

IV. ANSÄTZE DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

Insgesamt wurde die Beeinflussung des Kaliums und ATPs im Blut bei 10 Blutkonserven und an 10 Versuchspersonen untersucht.

Bei dem Konservenblut handelte es sich um 5 Tage alte, lysinfreie Konserven, bei denen das Plasma abgezogen war. Das Blut war mit Natriumcitrat, dessen gerinnungshemmende Eigenschaft 1915 von LEWISOHN (29) entdeckt worden war, ungerinnbar gemacht worden.

Bei den Versuchspersonen handelte es sich um zehn 20 - 30 Jahre alte Männer mit normalen Elektrolytwerten im Blut und normalen Hämatokrit.

Die Konserven wurden in zwei Gruppen unterteilt:

Gruppe 1:

Die ersten 5 Konserven wurden, nachdem das Erykonzentrat in 6 gleiche Teile geteilt und mit Ringerlösung 50:50 gemischt worden war in steigender Konzentration mit Cholinphosphatiden versetzt:

Ringerlösung:	NaCl	0,8
	K Cl	0,02
	CaCl	0,02
	NaHC	0,1
Aqua dest. ad		100,0

Ein Ansatz wurde als Leerwert geführt. Die weiteren 5 Ansätze wurden in steigender Konzentration mit Cholin-Phosphatiden versetzt, und zwar:

- Ansatz 2 : 0,1 g/1000 ml (= 0,1)
- Ansatz 3 : 0,2 g/1000 ml (= 0,2)
- Ansatz 4 : 0,4 g/1000 ml (= 0,4)
- Ansatz 5 : 0,8 g/1000 ml (= 0,8)
- Ansatz 6 : 1,6 g/1000 ml (= 1,6)

Hierbei liegt die therapeutische Breite in der klinischen Anwendung der Cholin-Phosphatide bei

0,2 - 0,4 g/1000 ml.

V. ERGEBNISSE

Um die Untersuchungsergebnisse anschaulicher zu machen, wurden die erhaltenen Werte (mval/l) in Prozent umgerechnet, wobei der Ausgangswert eines jeden Versuchs gleich 100 % gesetzt wurde.

1. Befunde am Konservenblut

Zur besseren Beurteilung des Effektes der Cholin-Phosphatide wurden die zehn Konserven in zwei Gruppen geteilt (jeweils n=5). Gruppe I wurde, nachdem das Blut wie oben angegeben behandelt worden war, 5 Tage bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt. Hierbei wurden täglich Kalium und ATP bestimmt. Anschließend wurde das Blut in ein Wasserbad von 37°C gebracht. Jetzt wurden die oben genannten Bestimmungen im Abstand von 12 Stunden dreimal ausgeführt.

Mittelwerte der ersten 5 Konserven

Kaliumgehalt der Erythrozyten in % des Ausgangswertes.

Tabelle 1

	Leerwert	0, 1	0, 2	0, 4	0, 8	1, 6
1. Tag 4°C	100	100	100	100	100	100
2. Tag 4°C	103, 5	108, 5	115, 1	107, 85	106, 32	102, 65
3. Tag 4°C	82, 02	95, 5	100, 9	94, 85	99, 3	82, 62
4. Tag 4°C	80, 32	93, 02	95, 5	90, 57	95, 6	71, 3
5. Tag 4°C	75, 35	86, 75	89, 55	84, 32	88, 28	54, 11

Inkubation in ein Wasserbad von 37°C

nach 12 St.	76, 08	93, 07	103, 06	93, 0	86, 3	54, 77
nach 24 St.	66, 93	84, 75	87, 0	76, 3	70, 97	33, 05
nach 36 St.	38, 5	44, 95	53, 45	46, 1	44, 1	23, 5

Der ATP-Gehalt des Blutes verhielt sich wie folgt:

Tabelle 2

	Leerwert	0, 1	0, 2	0, 4	0, 8	1, 6
1. Tag 4°C	100	100	100	100	100	100
2. Tag 4°C	71, 3	46, 25	42, 54	45, 17	45, 02	46, 16
3. Tag 4°C	53, 4	35, 3	32, 7	36, 8	54, 7	55, 9
4. Tag 4°C	58, 2	55, 3	59, 2	49, 2	48, 8	47, 6
5. Tag 4°C	62, 8	67, 0	70, 2	61, 3	72, 5	54, 8
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C						
nach 12 St.	52, 3	39, 1	56, 2	56, 1	56, 5	48, 8
nach 24 St.	32, 3	32, 3	48, 2	44, 8	47, 8	26, 4
nach 36 St.	18, 5	18, 5	26, 9	32, 9	15, 65	12, 3

Kalium im "Serum" Konserven 1 - 5

Tabelle 3

	Leerwert	0, 1	0, 2	0, 4	0, 8	1, 6
1. Tag 4°C	100	100	100	100	100	100
2. Tag 4°C	117, 5	123, 5	123, 2	132	150	220
3. Tag 4°C	129	136, 5	138	150, 5	190	316
4. Tag 4°C	146, 5	155, 3	145, 3	171, 0	234	384
5. Tag 4°C	152	172	178	200	260	553

Inkubation in ein Wasserbad von 37°C

nach 12 St.	154, 5	175	183	196	256	498
nach 24 St.	338	428	397	400	595	873
nach 36 St.	717	503	664	884	1058	---

Kaliumgehalt der Konserven 6 mit 10 im Serum

1. Tag 4°C	100	100	100	100	100	100
2. und 3. Tag im Kühlschrank bei 4°C ohne Messung						
4. Tag 4°C	196, 5	222	242	251	322	427

Inkubation in ein Wasserbad von 37°C

nach 12 St.	228	270	242	304	356	568
nach 24 St.	265	287	277	323	394	615

Die Ansätze der Konserven 6 mit 10 beließ ich nur 3 Tage bei 4°C im Kühlschrank. Die Bestimmungen führte ich nur am 1. Tag und nach 3 Tagen aus. Anschließend maß ich die einzelnen Komponenten nach Inkubation in ein Wasserbad wieder nach 12, 24 und 36 Stunden.

Kaliumgehalt der Erythrozyten in %: Ausgangswert jeweils gleich 100 %

Tabelle 4

	Leerwert	0, 1	0, 2	0, 4	0, 8	1, 6
1. Tag 4°C	100	100	100	100	100	100
2. und 3. Tag im Kühlschrank bei 4°C ohne Messung						
4. Tag 4°C	76, 73	84, 05	87, 4	83, 4	81, 38	72, 05
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C						
nach 12 St.	79, 63	89, 23	88, 5	89, 25	78, 38	71, 92
nach 24 St.	75, 7	86, 2	85, 7	82, 95	73, 72	38, 25
nach 36 St.	42, 5	46, 75	51, 4	43, 8	40, 9	26, 7

ATP-Gehalt des Blutes

Tabelle 5

1. Tag 4°C	100	100	100	100	100	100
4. Tag 4°C	61, 7	51, 7	57, 4	54, 2	49, 1	47, 7
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C						
nach 12 St.	47, 2	47, 7	52, 3	44, 2	42, 1	39, 7
nach 24 St.	37, 2	38, 4	42, 8	35, 4	35, 0	29, 4
nach 36 St.	20, 4	28, 1	30, 3	25, 5	18, 4	14, 1

2. Befunde des Blutes der Versuchspersonen

Den Versuchspersonen wurde im nüchternen Zustand aus der Kubitalvene ca. 40 ml Blut entnommen. Anschließend wurden den Personen durch die gleiche Kanüle 500 mg Cholinphosphatide in Form von zwei Ampullen Lipostabil injiziert. Nach zwei Stunden entnahm ich aus der Kubitalvene des anderen Armes wiederum ca. 40 ml Blut. Das Blut wurde jeweils nach der Entnahme heparinisiert und sofort den vorher beschriebenen Untersuchungen unterzogen.

Jetzt bewahrte ich das Blut im Kühlschrank bei 4°C drei Tage lang auf. Am 4. Tag führte ich erneut die geschilderten Bestimmungen durch. Anschließend verbrachte ich das Blut in ein Wasserbad von 37°C. Um die Elektrolytverschiebungen besser erfassen zu können, wurden alle vier Stunden die Messungen ausgeführt. Zusätzlich wurden noch jeweils Blutzuckerbestimmungen vorgenommen, um eine eventuelle Parallelität zwischen Kationenverminderung und Glukosegehalt festzustellen.

Kaliumgehalt der Erythrozyten in %: Ausgangswert jeweils gleich 100 %

Tabelle 6

n = 10

	Leerwert	nach Injekt. von 500 mg Ch-P.
Tag der Entnahme:	100	100
nach 3 Tagen 4°C:	69, 7	74, 5
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C		
nach 4 Stunden	78, 68	99, 0
nach 8 Stunden	68, 09	84, 2

ATP-Gehalt des Blutes

Tabelle 7

	Leerwert	nach Injekt. von 500 mg Ch-P.
Tag der Entnahme	100	100
nach 3 Tagen	62, 7	68, 4
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C		
nach 4 Stunden	48, 2	56, 8
nach 8 Stunden	35, 5	48, 4

Blutzuckerspiegel in %: Ausgangswert gleich 100 %

Tabelle 8

	Leerwert	nach Injekt. von 500 mg Ch-P.
Tag der Entnahme	100	100
nach 3 Tagen bei 4°C	58, 5	38, 9
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C		
nach 4 Stunden	42, 5	24, 5
nach 8 Stunden	34, 1	22, 5

Kaliumgehalt des Serums in %: Ausgangswert gleich 100 %

n = 10

Tabelle 9

	Leerwert	nach Injekt. von 500 mg Ch-P.
Tag der Entnahme	100	100
nach 3 Tagen	137, 9	130, 9
Inkubation in ein Wasserbad von 37°C		
nach 4 Stunden	130, 45	118, 5
nach 8 Stunden	140, 5	133, 7

VI. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Der Austausch von Kalium und Natrium gegen das Konzentrationsgefälle stellt eine der wichtigsten Leistungen der Zelle dar. FLYNN, MAIZELS und GLYNN (10, 15, 16, 31) nehmen eine Koppelung zwischen Natrium- und Kalium-Transport an. Denn diese Autoren fanden heraus, daß, wenn das Kalium in der Außenflüssigkeit erniedrigt ist, der Ausfluß des Natriums in den menschlichen Erythrozyten abnimmt. Davon ausgehend schlossen HARRIS (19) und MAIZELS (30), daß der Natriumausstrom und Kaliumeinstrom miteinander gekoppelt seien und möglicherweise die gleichen Träger benutzen. Ähnliche Untersuchungen wurden dann auch von anderen Autoren an niederen Lebewesen angestellt. Die gleichen Verhältnisse lassen sich auch für die Muskulatur des Frosches und an Pferdeerythrozyten nachweisen (KEPES, KEYNES 25, 26). Normalerweise wird ein Austausch von Natrium gegen Kalium im Verhältnis 1:1 angenommen (22). Dieser Koppelungsmechanismus kann jedoch gelöst werden, wenn Stoffwechselgifte wirksam werden (5, 6). ATP wird von HOKIN und HOKIN (23) als eine Quelle der Energie für den Natrium-Kaliumtransport zwischen Zellen und extrazellulärer Flüssigkeit bezeichnet. Sie stützten sich hierbei auf Untersuchungen von CALDWELL und Mitarbeitern (6), die aufzeigen konnten, daß an Nervenfasern nach Vergiftung mit Dinitrophenol oder Cyanid der Elektrolyttransport aus der Zelle unterbrochen wird und durch Injektion von ATP wieder in Gang gebracht werden kann.

WHITTAM (48) beobachtete einen Parallelismus zwischen dem Spiegel des ATP in den Erythrozyten und der Fähigkeit Kalium in der roten Blutzelle zu akkumulieren. Bisher gelang es aber niemandem nachzuweisen, daß ATP die alleinige Quelle der Energie für den aktiven Transport ist, um derartige Austauschvorgänge aufrecht zu erhalten, STRAUB (43, 44, 45, 11-14) und seine Schule gingen bei ihren Experimenten ganz neue Wege. Im Jahre 1952 konnten sie nachweisen, daß bei

Schädigung der Erythrozyten-Membran ATP aus der Zelle verschwindet und sich auch in der umgebenden Lösung nicht nachweisen läßt. Sie schlossen daraus, daß sich bei geänderter Struktur der Zellmembran eine ATP-ase bilde, bzw. aktiviert wurde, deren Wirkungsmechanismus von der Struktur der Membran der roten Blutkörperchen abhängig sei. Erst bei Schädigung der Membran werde dieses Enzym frei. In weiteren Untersuchungen gelang es den oben genannten Autoren, eine reversible Hämolyse der Erythrozyten durchzuführen. Nach Wiederherstellung der Isotonie gewannen sie dann Zellen, die sich in mehreren Hinsichten wie normale Zellen verhielten; diese Erythrozyten bezeichneten die Autoren als revertierte Zellen. Sie besaßen die Eigenschaft für Kalium-Ionen, anorganisches Phosphat, ATP sowie andere Verbindungen impermeabel zu sein. Setzt man vor der Herstellung der Isotonie also im hypotonen Zustand Kalium zu, so verteilen sich Kalium und anorganisches Phosphat nach Herstellung der Isotonie gleichmäßig zwischen Zellen und Außenflüssigkeit. Bei Wiederherstellung der Isotonie ist dann die Zelle für Kalium und anorganisches Phosphat undurchlässig. Bei dieser auf osmotischem Wege erfolgten Hämolyse werde - nach Meinung der Autoren - eine Schädigung der Membranstruktur vermieden oder eine wesentliche Änderung des ATP-Stoffwechsels trete nicht ein. Bei einer derart hergestellten Hämolyse nimmt der ATP-Gehalt ab, bei Hämolyse durch Einfrieren der Erythrozyten kommt es dagegen zu strukturellen Änderungen der Zellmembran, auf Grund dessen eine Aktivitätsänderung der ATP-ase anzunehmen sei. Auf Grund dieser Untersuchungen kommen die Autoren zu der Ansicht, daß bei normalen Erythrozyten eine ATP-ase-Aktivität nicht anzunehmen sei. Mit dieser Methode gelingt es nun natriumhaltige Erythrozyten zu gewinnen, die dann in der Lage sind, Kalium gegen Natrium auszutauschen und infolgedessen auch ihren Normalelektrolytzustand wieder zu gewinnen. Setzt man solchen hypotonen Erythrozyten ATP zu, so kommt es - nach Beendigung der Hämolyse, d. h. nach Herstellen der Isotonie - zu einer Anreicherung des ATP's in den roten Zellen. So konnte GARDOS (11, 12, 13) menschliche Erythrozyten herstellen, deren ATP-Gehalt das

fünf- bis zehnfache des normalen Wertes erreichte. Auch bei Hemmung der Glykolyse der Erythrozyten durch NaF konnte dieses Phänomen beobachtet werden. Daraus folgerte man, daß Kalium solange in den Erythrozyten angesammelt werde, wie ATP dort vorhanden sei.

Nach PONDER und HARRIS (33, 21) wird der Stoffwechsel der Erythrozyten durch Temperatursenkung vermindert. Bei etwa 4°C gleichen sich Kalium und Natrium eines Erythrozyten-Plasmagemisches aus, d. h. es kommt zum Kaliumverlust und zur Natriumaufnahme. Nach Wiedererwärmen dieses Gemisches geht die Erscheinung zurück, insbesondere wenn entsprechende Substrate zugesetzt werden. Somit wandern dann Natrium und Kalium-Ionen entgegen ihrem Konzentrationsgefälle. Hierbei muß angenommen werden, daß nicht nur aktive Transportvorgänge eine Rolle spielen, sondern daß auch eine passive Ionenwanderung mitwirkt, was in ähnlicher Weise auch für den Natriumtransport zutrifft: Ist also der Natriumionenstrom von der Kaliumkonzentration der Außenlösung unabhängig, so wird der aktive Natriumtransport durch Kalium-Ionen aktiviert. Bei vollständigem Fehlen von Kalium-Ionen in der Außenlösung kann selbst in Gegenwart von ATP kein aktiver Natriumtransport erfolgen. STRAUB und Mitarbeiter (43, 44, 45) nehmen an, daß der aktive Transport in die Zelle auf Kosten des Abbaus von energiereichem Phosphat der Zellmembran vor sich geht. WHITTHAM (48) untersuchte Transportvorgänge an menschlichen Erythrozyten mit radioaktivem Kalium (K^{42}). Er führt aus, daß die Menge der ATP der roten Blutzelle in weiten Grenzen schwankt. Im Vergleich dazu sei der Kaliumgehalt in den roten Blutzellen verhältnismäßig konstant gewesen. Nach Inkubation dieser Zellen von 37°C kam es zum Abfall von Kalium und ATP in den Zellen nach einer Zeit von 5 Stunden. Bewahrte er seine Zellen dagegen für eine Dauer von 5 Tagen zunächst bei 4°C auf, so ließ sich ebenfalls eine Verminderung von ATP und Kalium in den Zellen nachweisen. Wurden die Zellen daraufhin in ein Medium von 37°C überführt so kam es zum Einstrom von Kalium und zum Anstieg von ATP.

WHITTHAM (48) folgerte daraus, daß ein KaliumEinstrom mit einer Vermehrung von ATP einhergehen müsse, während ein Ausstrom von Kalium mit einer Verminderung an ATP gekoppelt sei.

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen der Konserven kam es sowohl in der Kälte als auch in der Wärme zu einem Abfall der Kalium-Ionen in den Erythrozyten (Abb. 1), bzw. zu einem Ansteigen dieser im Serum (Abb. 2). Die erste Abbildung zeigt eine Verminderung des K-Ausstroms der niederen Konzentration und eine Erhöhung bei der höchsten Stärke. Im zweiten Versuchsansatz wurden die Konserven lediglich im

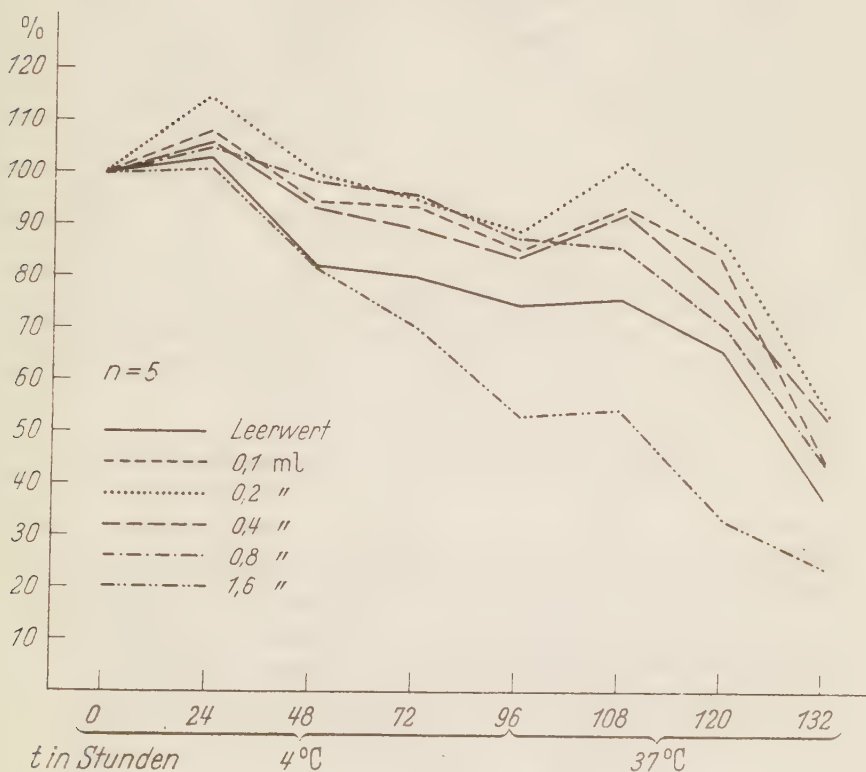


Abb. 1: K in den Erythrozyten eines Erythrozyten-Ringer-Gemisches (1:1) und nach Zusatz von Cholinphosphatiden (EPL) in einer Konzentration von 0, 1; 0, 2; 0, 4; 0, 8 und 1, 6 ml pro 100 ml Gemisch.

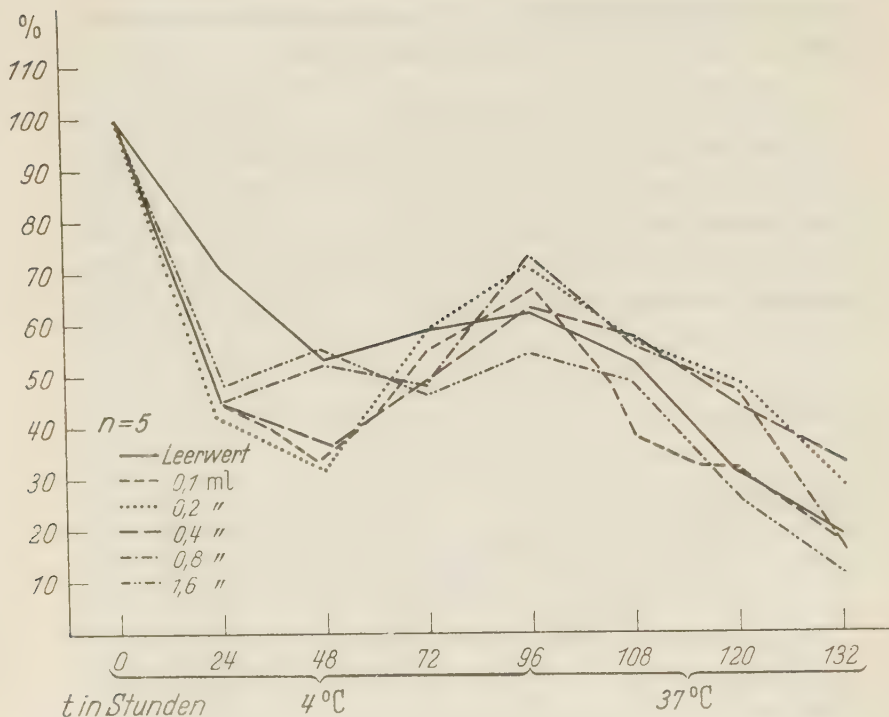


Abb. 2: Das Verhalten der ATP nach Zusatz von Cholinphosphatiden (vgl. Abb. 1).

Zeitpunkt 0 und nach 72 Stunden gemessen. Hierbei kommt ebenfalls diese Differenzierung der Linien zur Darstellung. Nach Verbringen der Konserven in ein Wasserbad von 37° zeigt sich nur hinsichtlich des Leerwertes und der Konzentration von 0,4 ein angedeuteter Rücktransport, um im nächsten Zeitpunkt nach weiteren 12 Stunden deutlich abzufallen. Bei diesen Konserven besteht nach der Kurvenführung ebenfalls der Eindruck, daß die Konzentrationen 0,1 bis 0,8 den Ausstrom eher im Vergleich zum Leerwert hemmen, d. h. das Konzentrationsgefälle liegt

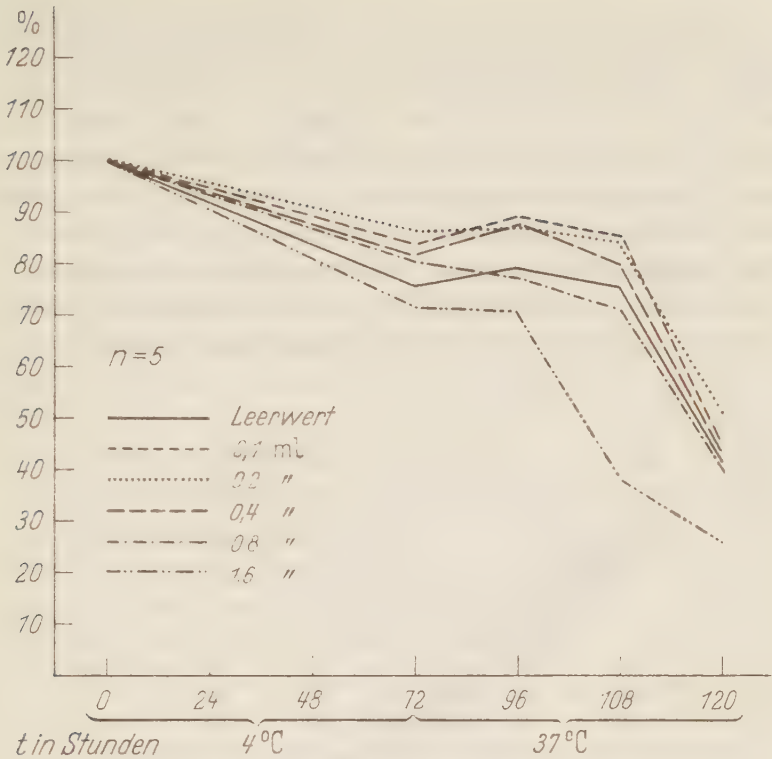


Abb. 3: K im Erythrozyten-Ringer-Gemisch (vgl. Abb. 1)

niedriger als der des Leerwertes, während die Konzentration 1,6 den Ausstrom fördert. Dies muß wohl auf den Zusatz an Cholin-Phosphatiden und damit auf eine Wirkung auf den Carrier bezogen werden. Auf die Auswertung der Natriumwerte in den Erythrozyten und Serum wurde verzichtet. Bereits bei der Abnahme des Blutes wird der Konserve mit dem Stabilisator Natrium zugeführt, so daß hierdurch eine andere Ionenkonzentration besteht. Vergleicht man zu diesen Werten den ATP-Gehalt, so finden wir unabhängig von der Temperatur im ersten Ansatz (Abb. 2) ein Ansteigen des ATP's bei den höheren Konzentrationen.

Nach Verbringen in die Wärme fällt der ATP-Gehalt weiter ab. Es muß dazu gesagt werden, daß wir gegenüber den Ergebnissen wie sie in Abbildung 1 aufgetragen sind, keine Korrelation zwischen Kalium und ATP finden konnten. Wie die beiden Ansätze zeigen (Abb. 2 und 4) vermindert sich der ATP-Gehalt der Erythrozyten bei der angewandten Methodik fortlaufend. Die eingesetzten Konzentrationen an Cholin-Phosphatiden lassen dagegen selbst bei unterschiedlicher Versuchsanordnung einen Einfluß auf den Kaliumausstrom erkennen. In den therapeutischen Breiten (0, 2 bis 0, 8 ml/1000 ml) zeigt sich eine Verzögerung, während in der höheren Konzentration von 1, 6 ml/1000 ml im Gemisch eine Beschleunigung

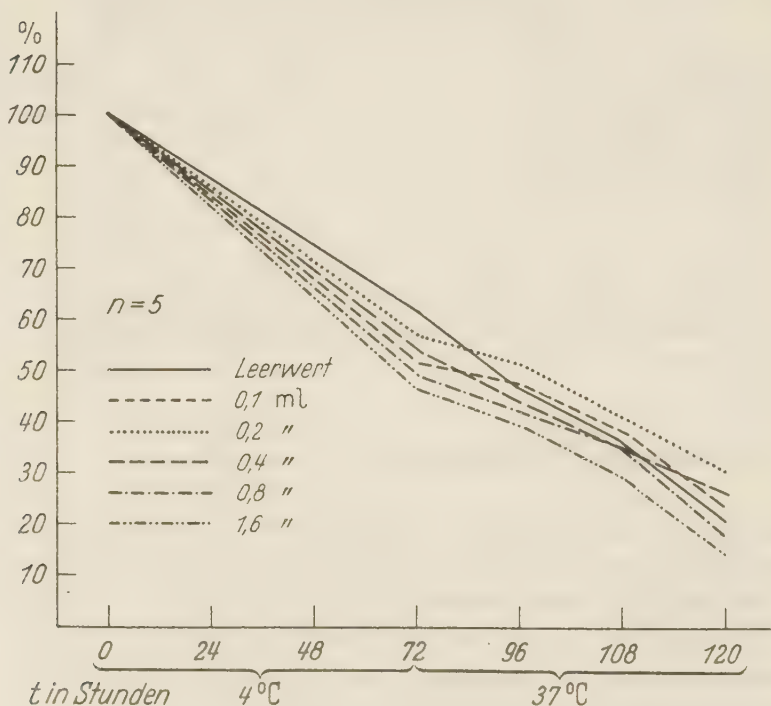


Abb. 4: (vgl. Abb. 1 und 3) ATP-Werte.

des Ausstroms nachzuweisen ist. Da diese Untersuchungen hinsichtlich der Beeinflussung der Transportfunktionen nur mit gewisser Vorsicht zu verwerten waren, sollten weitere Untersuchungen Aufschluß geben.

Bezog sich der Vorbehalt auf die Untersuchungen in den Blutkonserven, in erster Linie auf den Zusatz von Natrium-Ionen, so dürften bei dem 2. Vorgehen, der Zusatz von Heparin als störend empfunden werden. Da jedoch die Störfaktoren sowohl im Leeransatz wie im parallel untersuchten "Belastungs-" Ansatz die gleichen waren, ist logischerweise ein Ausschluß dieser Bedingungen anzunehmen. Hierbei zeigte sich, daß der Kaliumausfluß unter Cholin-Phosphatiden geringgradig langsamer erfolgt, dagegen der Einstrom um mindestens 10 % stärker ist als im Leerwert (Abb. 5). Somit kann eine Beeinflussung der Cholin-Phosphatide auf die Membran angenommen werden. Dieses Verhalten erklärt auch die Untersuchungen SCHETTLER's (38). Allerdings dürfen auf Grund des Verhaltens der ATP unsere Untersuchungen, die keinen Anstieg in der Wärmephase zeigten, dieses Phänomen wohl nicht im Sinne eines energiegebundenen Transports gedeutet werden, sondern auf Grund eines passiven Ionen-Stromes. Ob darüberhinaus eine andere Energiequelle als das ATP zur Verfügung steht, kann ich nicht entscheiden. Möglicherweise sind die Effekte bei der Untersuchung des Konservenblutes teilweise auf die Alterung zurückzuführen. Hinsichtlich des ATP-Gehaltes des Patientenblutes muß ausgeführt werden, daß bei kinetischen Studien die alleinige Bestimmung von ATP keinen hinreichenden Anhalt geben kann, da die ATP-ase-Aktivität wohl als maßgebend angesehen werden muß. Es sei hier auf Untersuchungen von WHITTAM hingewiesen, der feststellen konnte, daß bei Anreicherung von Erythrozyten mit ATP an der Außenseite eine Steigerung der ATP-ase nicht vorhanden war. Diese ist nur an der Innenseite nachweisbar. Das intrazelluläre Natrium und das extrazelluläre Kalium regen die Spaltung des ATP an. Das Verhalten der ATP-ase zeigt Parallelen sowohl bei geschädigten als auch bei intakten Zellen (8, 34).

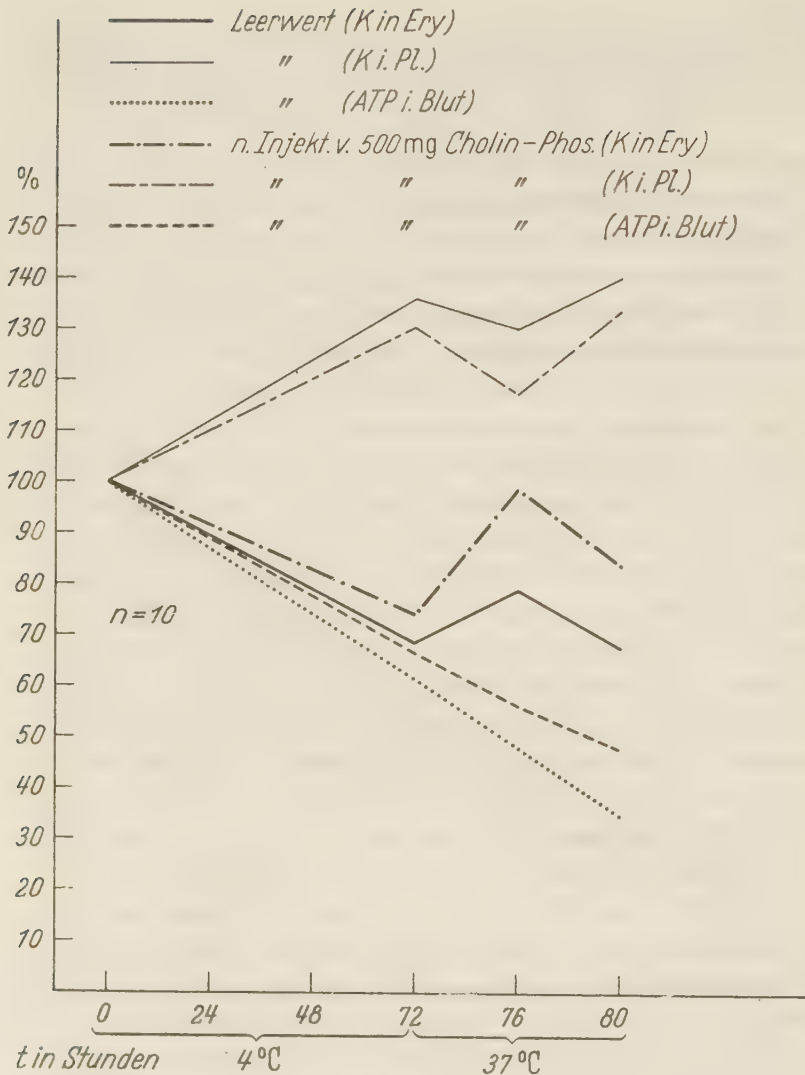


Abb. 5: Kalium- und ATP-Mittelwerte, gewonnen bei 10 Probanden. Es zeigt sich eine deutliche Beeinflussung des Kalium-Aus- und Rückstromes unter Einwirkung von Cholinphosphatiden.

Dieses asymmetrische Vorkommen der ATP-ase in der Zelle und die asymmetrische Aktivierung durch Natrium- und Kalium-Ionen läßt sich auch an anderen Geweben nachweisen (35).

Die erste Phase sämtlicher Versuchsbedingungen läßt eine Parallelität von ATP-Abfall und Kaliumausstrom erkennen. Dies wäre ohne weiteres im Sinne eines aktiven Transportes zu deuten. Unerklärt bleibt in diesem Sinne der Einstrom von Kalium in der Wärme bei gleichzeitigem ATP-Verlust. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen ist eine Zunahme des ATP nicht nachzuweisen. Hier müßten also andere Mechanismen oder ein Gegentransport gegen Natrium oder Glukose angenommen werden (28). Dennoch lassen die vorliegenden Ergebnisse keinen Zweifel daran bestehen, daß Cholin-Phosphatide in der üblichen therapeutischen Breite den Ionenstoffwechsel der Erythrozyten beeinflussen. Im Erythrozyten-Plasma-Gemisch zeigte sich sowohl bei Konserven als auch im Frischblut der Patienten nach Zusatz von Cholin-Phosphatiden ein verlangsamter Ausstrom von Kalium und eine erhöhte Rückstromrate.

VII. ZUSAMMENFASSUNG DER EINZELNEN PUNKTE

Die gegensätzlichen Konzentrationen von Kationen z. B. Kalium und Natrium in der Zelle und in der umgebenden Flüssigkeit stellen einen Grundvorgang dar, der für die Aufrechterhaltung des Lebens notwendig ist. Während man als eine Energiequelle dieses Mechanismus die ATP annimmt, besteht jedoch keine Klarheit über den "Carrier". Diese Verbindung bewirkt letztlich erst den Austausch. Es besteht die Auffassung, daß dieser ein Glycerin ist. Aus diesem Grunde wurden Untersuchungen mit Cholinphosphatiden durchgeführt. Diese stellen einen Diglycerid-Ester dar. Hierbei beobachtete ich bei Untersuchungen während der Alterung der Erythrozyten eine Verminderung des Kaliumausstroms bei niederen Konzentrationen und bei der höchsten Konzentration eine Vermehrung. Eine Abhängigkeit dieses Ausstroms von der Konzentration an ATP konnte dagegen nicht nachgewiesen werden.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Wanderung des Kaliums in der Kälte und in der Wärme im heparinisierten Blut und ferner in einer erneuten Reihe 2 Stunden nach intravenöser Injektion von Cholinphosphatiden nachgewiesen. Hierbei zeigte sich ein differentes Verhalten des Kaliums. Die erwähnte Verbindung verlangsamte den Ausstrom an Kalium und führte in der Wärme zu einem verstärkten Einstrom. Somit kann geschlossen werden, daß diese Verbindung eine Wirkung auf den Kalium-Natrium-Austausch zumindest im Erythrozyten-Plasmagemisch besitzt. Auf Grund dieser Untersuchungen kann auch auf eine Wirkung auf die übrigen Körperzellen geschlossen werden.

Herrn Professor Dr. med. H. Franke danke ich aufrichtig für die Überlassung des Arbeitsplatzes an seiner Klinik, wodurch diese Arbeit erst entstehen konnte.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. W. Gross möchte ich besonders danken für die Überlassung des Themas und für die vielseitigen Anregungen und Ratschläge bei den experimentellen Untersuchungen. Er hat durch seine große Diskussionsbereitschaft, durch wichtige Hinweise bei der kritischen Auswertung der Versuche und durch sein großes Verständnis entscheidend zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM, H. : Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat. Adenosin-5'-triphosphat-Bestimmung mit Phosphoglycerat-Kinase. In: 3. S. 539 und 573
2. ALBRINK, M. J. : Triglycerides, Lipoproteins and coronary artery Disease. Arch. intern. Med. 109 (1962) S. 345
3. BERGMAYER, H. U. : Methoden der enzymatischen Analyse, Verlag-Chemie, Weinheim/Bergstr. 1962
4. BOYLE, P. J. a.
E. J. CONWAY: Potassium accumulation in muscle and associated changes. J. Physiol. 100, 1 (1941)
5. CALDWELL, P. C. ,
A. L. HODGKIN,
R. D. KEYNES a.
T. J. SHAW: The effect of injecting "energy-rich" phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of loligo. J. Physiol. 152, 561 (1960)
6. CALDWELL, P. C. : Some aspects of the part played by phosphate compounds in the regulation of certain inorganic ions in cells. In: Regulation of the inorganic ion content of cells. Ciba Foundation Study Group No. 5. Churchill Ltd. London 1960 p. 69
7. CONWAY, E. J. : Critical energy barriers to active transport in muscle and the redox pump theory. in: Regulation of the inorganic ion content of cells. Ciba Foundation Study Group No. 5 Churchill Ltd. London 1960 p. 2
8. DUNHAM, E. T. a.
J. M. GLYNN: Adenosinetriphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. J. Physiol. 156, 274 (1961)
9. ECKEL, R. E. : Potassium exchange in human erythrocytes. J. cell. comp. Physiol. 51, 81 (1958)
10. FLYNN, F. a.
M. MAIZELS: Cation control in human erythrocytes. J. Physiol. 110, 301 (1949)

11. GÁRDOS, G.: Akkumulation der Kaliumionen durch menschliche Blutkörperchen.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 6, 191 (1954)
12. GÁRDOS, G.: The permeability of human erythrocytes to potassium.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 10, 185 (1956)
13. GÁRDOS, G. a.
 F. B. STRAUB: Über die Rolle der Adenosintriphosphorsäure (ATP) in der K-Permeabilität der menschlichen roten Blutkörperchen.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 12, 1 (1957)
14. GARZO, T.,
 A. ULLMANN,
 F. B. STRAUB: Die Adenosintriphosphatase der roten Blutkörperchen.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 3, 513 (1952)
15. GLYNN, I. M.: Ion fluxes in red cells.
J. Physiol. 134, 278 (1956)
16. GLYNN, I. M.: The ionic permeability of the red cell membrane.
Progr. Biophys., biophys. Cehm. 8, 241 (1957)
17. GREEN, J. W.: The separation of cation exchange and Glycolysis in human red cells exposed to non-ionizing radiations.
J. cell comp. Physiol. 47, 125 (1956)
18. HARRIS, J. E.: The influence of the metabolism of human erythrocytes on their potassium content.
J. biol. Chem. 141, 579 (1941)
19. HARRIS, J. E.: Linkage of Na and K active Transport in human erythrocytes.
Symp. Soc. exper. Biol. 7, 125 (1953)
20. HARRIS, J. E.: The linkage of sodium- and potassium-active transport in human erythrocytes.
Symp. Soc. exper. Biol. 8, 228 (1954)

21. HARRIS, J. E. : The influence of the metabolism of human erythrocytes on their potassium content. *J. biol. Chem.* 141, 579 (1941)
22. HOKIN, L. E. a.
M. R. HOKIN: Studies on the carrier function of phosphatidic acid in sodium transport. *J. gen. Physiol.* 44, 61 (1960)
23. HOKIN, L. E. a.
M. R. HOKIN: Biological Transport. *Ann. Rev. Biochem.* 32, 553 (1963)
24. JUCHEMS, R. u.
W. GROSS: Zur Einwirkung von Cholinphosphatiden auf die Blutlipide. *Med. Welt* (1964) 44, 2387
25. KEPES, A. : Bacterial permeases.
in: *Coll. Ges. physiol. Chemie*, Springer-Verlag 1961
26. KEYNES, R. D. : The mechanism of active transport of ions in nerve and muscle fibres. *Coll. Ges. physiol. Chemie*, Springer-Verlag 1961
27. LÖHR, G. W. ,
H. D. WALLER: Zellstoffwechsel und Zellalterung. *Klin. Wschr.* 37, 833 (1959)
28. LEFÈVRE, P. G. : The evidence for active transport of monosaccharides across the red cell membrane. *Symp. Soc. exp. Biol.* 8, 118 (1954)
29. LEWISOHN, R. : Blood Transfusion by the Citrate Method. *Surg. Gyn. and Obs.* 21, 37 (1915)
30. MAIZELS, M. : Factors in the active transport of cations. *J. Physiol.* 112, 59 (1951)
31. MAIZELS, M. : Cation transfer in human red cells.
in: *Membrane Transport and Metabolism*, Symp. Prague 1960
32. NETTER, H. : Theoretische Biochemie, Springer-Verlag 1959
33. PONDER, E. : The rate of loss of K from human red cells in systems to which lysins have not been added. *J. gen. Physiol.* 32, 461 (1949)

34. POST, R. L.,
C. R. MERRIT,
C. R. KINSOVING a.
C. D. ALBRIGHT: Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte.
J. biol. Chem. 235, 1796 (1960)
35. ROBERTS, E. u.
C. F. BAXTER: Neurochemistry. Ann. Rev. Biochem. 32, 513 (1963)
36. SCHETTLER, G.: Arteriosklerose.
Thieme-Verlag, Stuttgart 1961
37. SCHETTLER, G.: Pharmakotherapie der coronaren Durchblutungsstörungen (stoffwechselwirksame Substanzen).
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 69, 599 (1963)
38. SCHETTLER, G.: Über die Wirkungen einer Cholin-1-Hospholipid-Reinstfraktion auf den Mineralhaushalt des Menschen.
Klin. Wschr. 38, 139 (1960)
39. SOLOMON, A. K.: The permeability of the human erythrocyte to sodium and potassium.
J. gen. Physiol. 36, 57 (1952/53)
40. SOLOMON, A. K.: The permeability of red cells to water and ions.
Ann. New York Acad. sci. 75, I, 175 (1958)
41. SOLOMON, A. K.: Physiology of cell membrane.
J. gen. Physiol. 43, I (1960)
42. SOLOMON, A. K.: Ion transport in single-cell populations.
Biophys. J. 2, 79 (1962)
43. STRAUB, F. B.: Über die Akkumulation der Kaliumionen durch menschliche Blutkörperchen.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 4, 235 (1953)
44. SZÉKELY, M.,
S. MÁNYAL u.
F. B. STRAUB: Über den Mechanismus der osmotischen Hämolyse.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 3, 571 (1952)

45. SZÉKELY, M.,
S. MÁNYAI u.
F. B. STRAUB:
Die Wirkung der Hämolyse auf den Stoffwechsel der roten Blutkörperchen beim Menschen.
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 4, 31 (1953)
46. USSING, H. H. u.
K. ZERAHN:
Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin.
Acta physiol. scand. 23, 110 (1951)
47. USSING, H. H. :
Experimental evidence and biological significance of active transport.
12. Coll. Ges. physiol-Chemie, Springer-Verlag 1961
48. WHITTAM, R. :
Potassium movements and ATP in human red cells.
J. Physiol. 140, 479 (1958)
49. WILBRANDT, W. :
Permeabilität, aktiver Transport und Trägermechanismus.
Dtsch. Med. Wschr. 82, 1153 (1957)
50. WILBRANDT, W. :
Aktiver Transport durch Grenzflächen.
102. Verhdlg. Naturf. Ärzte, München 1962, Springer-Verlag Berlin 1963
51. WILBRANDT, W. :
Aktiver Transport durch Grenzflächen.
Klin. Wschr. 41, 138 (1963)

Lebenslauf

Am 26. April 1939 wurde ich, Herbert Walter Johann Feustel, derzeit wohnhaft in Würzburg, Lerchenhain 6, als erstes Kind des Landwirts Edmund Feustel und seiner Ehefrau Philomena, geb. Mohr in Schweinfurt geboren.

Meine Kindheit und Volksschulzeit verbrachte ich in Forst, einem kleinen Dorf bei Schweinfurt.

Von 1950 bis 1956 besuchte ich dann das humanistische Gymnasium in Münnerstadt. Anschließend wechselte ich an das hum. Gymnasium Schweinfurt, wo ich im Juni 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Im Winterhalbjahr 1959/60 begann ich dann an der Universität Würzburg das medizinische Studium. Im Sommer-Semester 1960 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab und im Sommer-Halbjahr 1962 die ärztliche Vorprüfung. Auch die 6 klinischen Semester studierte ich an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg, wo ich am 20. Dez. 1965 die ärztliche Prüfung mit der Note "gut" bestanden habe.

Seit dem 29. Januar 1965 bin ich mit Waltraud Feustel, geb. Link verheiratet. Wir haben zusammen einen Sohn.

Seit dem 1. Januar 1966 arbeite ich als Medizinalassistent beim Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes in Würzburg.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Herbert Feuster

IBM-SCHREIBSATZ, OFFSETDRUCK
G U G E L
87 Würzburg, Burkarderstr. 9

IBM-SCHREIBSATZ, OFFSETDRUCK

G U G E L

87 Würzburg, Burkarderstr. 9